

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO
diretto dal prof. L. PAGLIANI

maggio

BG

PER SAGGIO

1/4

RICERCHE
ED
OSSERVAZIONI SPERIMENTALI
SULLA
RABBIA

~~~~~  
**NOTA I**

dei dottori E. BERTARELLI e G. VOLPINO, Assistenti

—  
*Estratto dalla Rivista d'Igiene e Sanità pubblica*  
Anno XIV — 1903  
—

**TORINO**  
**STABILIMENTO FRATELLI POZZO**  
1903.

SECRET

PROCESSED BY THE NATIONAL SECURITY AGENCY  
ON 11/11/54

AS OF

11/11/54

SECRET

PROCESSED BY THE NATIONAL SECURITY AGENCY  
ON 11/11/54

ALL INFORMATION CONTAINED HEREIN IS UNCLASSIFIED  
DATE 11/11/54 BY 1111/1111

SECRET

PROCESSED BY THE NATIONAL SECURITY AGENCY  
ON 11/11/54

SECRET

## RICERCHE ED OSSERVAZIONI SPERIMENTALI SULLA RABBIA <sup>(1)</sup>

---

### NOTA I

*dei Dottori E. BERTARELLI e G. VOLPINO, Assistenti*

---

Le ricerche che formano oggetto di questa memoria sono state iniziate nel 1902. Esse erano state intraprese specialmente per ricercare un mezzo pratico, rapido e sicuro di diagnosi biologica della rabbia, e per tentare la coltivazione, con opportuni artifici, del virus rabido nell'organismo animale. In seguito, e prima ancora che comparissero i reperti dei nuovi corpi endocellulari, avevamo tentato le filtrazioni del sistema nervoso rabido in diverso modo e con artifici diversi, specialmente per riuscire a qualche nuovo dato sulla grandezza del presupposto agente della rabbia e sul suo comportamento alle filtrazioni.

Molte delle ricerche che saranno in seguito accennate, necessitano di altre prove, in altre condizioni e con espedienti diversi. Noi abbiamo creduto utile comunicare per intanto i risultati ottenuti (i quali, più che altro, costituiscono delle prove iniziali), soprattutto di fronte ad altre comunicazioni apparse di recente intorno a quesiti analoghi e talora identici a quelli da noi trattati. Dal raffronto tra il risultato dei diversi ricercatori, se non è ancora possibile trarre delle conclusioni assolute per la eziologia della rabbia, è però lecito dedurre quale è la via da battere in questo genere di ricerca.

---

(1) Il sunto di tali ricerche fu comunicato nei primi giorni di luglio alla R. Accademia medica di Torino.

NB. Lavoro consegnato in tipografia il 25 settembre 1903.

\*  
\* \*

*Tentativi di coltivazione del virus rabido nell'organismo, e tentativi per una diagnosi biologica rapida della rabbia.* — Il tentativo più recente di una coltivazione speciale del virus rabido nell'organismo (indipendentemente dai tentativi di coltivazione sui comuni terreni adoperati per gli schizomiceti) è quello di Kraus, Keller e Clairmont (1). Essi tentarono senza successo di coltivare il virus rabido nel cervello di animali uccisi, inoculati poi di virus rabido, e tenuti in camera fredda. Prova questa che *a priori* si presta a critiche e obiezioni gravi, soprattutto per la temperatura alla quale il tentativo di coltivazione era fatto. Noi abbiamo invece pensato che la coltura del virus rabido poteva riuscire, quando fosse fatta in segmenti localizzati del sistema nervoso periferico, e in determinati tratti del midollo.

Per rendersi ragione di questo presupposto basta ricordare i fatti messi in luce da Di-Vestea e Zagari sulla trasmissione della rabbia lungo i nervi, ed i fenomeni rilevati da questi autori e da altri, sulla infettività dei tronchi nervosi periferici, negli animali rabidi.

Pensavamo che sezionando un tratto di nervo sciatico, inoculando piccole quantità di virus nel nervo esciso e abbandonato in sito, era possibile ottenere una moltiplicazione del virus (dimostrabile colla prova biologica, diluendo opportunamente l'emulsione del nervo prima del trapianto subdurale, ed eseguendo passaggi seriali in altri nervi sciatici, posti in condizioni identiche) nel tronco nervoso esciso; il che in altri termini equivaleva ad avere una reale coltura del virus rabido localizzato. Ben inteso perchè la prova fosse positiva, non solo il segmento di nervo inoculato doveva mostrarsi trasformato per intero in *virus* rabido e dovevano presentarsi tale nei passaggi in serie per altri conigli, ma l'animale portatore della coltura non doveva presentare ma-

---

(1) KRAUS R., KELLER E. e P. CLAIRMONT, *Zeit. f. Hygiene*, vol. 41, 1902.

NB. Nel corso del lavoro riportiamo solo la letteratura indispensabile. Per il resto nella trattazione della rabbia negli *Ergebnisse d. Allgem. Pathologie* di Lubarsch-Ostertag e Bergmann e nel volume di A. Högyes, *Lyssa*, della *Spec. Pathol.* di Nothnagel è raccolta quasi interamente la letteratura che può interessare l'argomento sino a questi ultimi anni.

nifestazioni rabide: poichè in tal caso la prova sarebbe riuscita negativa, potendosi ritenere che il tronco nervoso esciso fosse rabido per diffusione del virus proveniente dai centri infettati.

La prova avrebbe dovuto riuscire ancora meglio in un segmento esciso di midollo lombare; ma l'emorragia sempre grave dell'atto operativo (eseguito colla tecnica migliore, e con ogni artificio per aumentare la celerità e diminuire il trauma), sconsigliò dal proseguire nei tentativi sui segmenti escisi di midollo.

Le prove fatte sui nervi hanno dato risultati negativi, non diversamente di quanto hanno ottenuto altri ricercatori che operarono in condizioni per vero assai più infelici delle nostre.

Per dare un concetto esatto del modo da noi tenuto, riassumo brevemente il procedimento operativo. Si pone allo scoperto il grosso tronco dello sciatico con ogni cura di asepsi: si solleva il tronco con un largo uncino, si gettano due legature su un tratto di 2 cm. circa del nervo, si serrano bene i nodi, si passa sotto al nervo una striscia di cotone idrofilo e con un ago sottile si inocula una piccola frazione di virus nello spessore del nervo. Indi si asciuga con un battufolino di cotone il nervo e lo si abbandona legato, oppure si escide al di sopra della legatura superiore e al disotto della inferiore.

Se l'animale non presentava sintomi dopo un tempo variabile da 7 a 9 giorni, si poneva a nudo lo sciatico operato, si raccoglieva il pezzetto di nervo esciso o legato, lo si spappolava emulsionandolo in soluzione fisiologica e si inoculava un altro coniglio nello sciatico (esciso o legato), praticandosi pure sempre un innesto subdurale di controllo.

Così si procedeva ad un terzo e ad un quarto trapianto.

Come si è detto, non ostante il sacrificio di numerosi animali, il risultato fu negativo. Alcuni conigli, e più specialmente alcuni di quelli inoculati in un tratto legato di nervo, morirono di rabbia, talchè si doveva pensare o ad una diffusione del virus nei linfatici, o ad un passaggio del virus pel nervo non ostante la legatura. Anche in un animale nel quale si praticò l'escisione del siero si ebbe diffusione del processo, con morte sopravvenuta in 30<sup>a</sup> giornata (si trattava di virus fisso).

Negli altri animali si riuscì a mantenere l'infezione localizzata al tratto esciso: ma il virus andò scomparendo invece di

moltiplicarsi, e ciò tanto pel virus fisso, che pel virus di strada, che pel virus di passaggio. In generale al 3° passaggio seriale nel nervo esciso era scomparsa ogni traccia di virus. Per cui anche questi tentativi di coltivazione del virus rabido sono riusciti negativi, sebbene replicati in numerosi animali.

Nel corso di queste prove (che riassumiamo brevemente perchè negative, e che solo ricordiamo poichè a nostro criterio la via tentata ci pare la più logica di quelle sino ad ora sperimentate per ottenere nel vivo una coltura localizzata di virus rabido) abbiamo avuto occasione di fare alcune osservazioni sulla infettività dei nervi periferici dei varî lati, osservazioni che ricordiamo perchè riferentisi a questioni alquanto controverse, o che han dato ai varî ricercatori risultati talora differenti.

Così in 5 conigli abbiamo osservato che inoculando il V. F. (virus fisso) in uno sciatico, alla morte dell'animale, anche l'altro era rabido; in un 6° coniglio abbiamo verificato che realmente il nervo opposto, raccolto nei momenti preagonici, non era infettante.

Ancora abbiamo avuto agio di verificare il decorso dapprima discendente e poi ascendente del virus nei nervi. Inoculando, cioè, con ogni cura nello sciatico del V. F. in alcuni conigli, e sezionando il nervo a monte si osserva che l'animale muore di rabbia, ma con andamento lento (22-32 giorni).

Che il virus fosse disceso e risalito realmente pel nervo, e non si fosse eventualmente diffuso pei linfatici o pei vasi sanguigni, per difetto di tecnica o per qualche inconveniente nell'atto operativo, era provato da ciò, che infettando il tronco periferico reciso e poi asportandone un tratto di qualche centimetro nel punto inoculato (e subito dopo l'iniezione), non si aveva infezione anche abbandonando il pezzo esciso in sito.

Le ricerche da noi intraprese per trovare un mezzo rapido di diagnosi della rabbia, si allontanano da quelle recenti stabilite da Centanni.

Anche qui trattandosi di prove che hanno dato risultato negativo sempre o quasi, basterà riassumere la via seguita, perchè sia evitato ad altri, che si accingesse a tal tema, l'ingrato cammino.

Abbiamo cercato eventuali emolisine nel siero dei conigli rabbiosi pei varî virus, e per i globuli dei conigli e dei cani sani e rabbiosi, e il risultato, anche variando le diluzioni, e mutando il periodo di malattia durante il quale si faceva la raccolta del siero, fu negativo o incerto sempre.

Abbiamo cercato se i filtrati a limpidezza di una fine emulsione di cervello rabido di coniglio o di cane, o di cervello normale, dessero una precipitazione col siero di conigli rabidi, ma il risultato fu pure negativo.

Abbiamo immunizzato dei conigli per la via endovenosa con virus fisso, e abbiamo provato dopo varî mesi di trattamento il siero di questi conigli, sui filtrati di emulsione cerebrale di conigli rabidi e normali: ma il risultato fu assolutamente scoraggiante.

E basti accennare a questi, senza ricordare altri meno logici tentativi il cui insuccesso fu del tutto o quasi costante.

Nel corso di alcune di tali prove abbiamo avuto occasione di fare varî rilievi riguardo alla immunizzazione dei conigli per virus fisso, mediante inoculazioni endovenose. L'argomento è interessante, e se l'occasione ci si presenterà, torneremo su di esso. Per ora ricordiamo che il metodo offre pericoli serî, sempre quando non si adoperi materiale finamente spappolato e filtrato per carta; che con questo metodo i conigli sopportano quantità enormi di virus, senza punto infettarsi (in un coniglio abbiamo inoculato in meno di due settimane 8 cmc. di un materiale certamente infettante se inoculato subduralmente nella quantità di 2 gocce), e per ultimo che non ostante il trattamento prolungato per 4 mesi i nostri animali immunizzati non resistettero mai all'inoculazione endonervosa, e tanto meno alla subdurale, di virus fisso.

\*  
\* \*

*Prove di filtrazione del virus rabido.* — I tentativi di filtrazione del virus rabido non sono recenti. Bert (1) pel primo filtrò la saliva di un cane rabbioso attraverso a del gesso, e trovò che il liquido filtrato era inattivo: prova pure stabilita con ugual risultato da Nocard (2). Più tardi Puech (3) tentò le

---

(1) BERT, *Compt. Rend. de l'A. d. Scien.*, 1882, t. 295.

(2) NOCARD e LECLAINCHE, *Les maladies microb. des anim.*, Parigi, 1903.

(3) PUECH, *Revue vétérin.*, 1889.

filtrazioni del midollo di cane rabbioso con pressioni di 3 atmosfere, ed ottenne un filtrato nè attivo, nè immunizzante. Nello stesso anno un ugual risultato negativo avrebbe ottenuto Anrep (1) coi cervelli di conigli rabidi, e pure senza successo riuscirono i tentativi di De-Blasi e Russo-Travali (2) adoperando notevoli quantità di liquido filtrato.

In questi ultimi tempi le prove di filtrazione hanno assunto una importanza notevole, e varî sperimentatori hanno cercato di applicarle e per studiare la grandezza dell'agente della rabbia e per vedere se i corpi che Negri ha descritto, possono interpretarsi come agenti della rabbia stessa.

Per citare solo i ricercatori che ultimamente, e con vedute nuove, hanno affrontato questo problema, ricordiamo Guarnieri (3), Di-Vestea (4), Remlinger e Riffat-Bey (5), ed ultimissimo lo Schüder (6), la cui nota apparve quando già il nostro manoscritto era in composizione.

Guarnieri avrebbe osservato che con candele di porcellana e buoni filtri di carta il virus fisso è trattenuto sul filtro; però la sua nota è troppo priva di dettagli per renderci una esatta nozione e delle prove e della interpretazione da darsi ad esse.

Di-Vestea (cui spetta il merito di avere adoperato sistematicamente le filtrazioni del virus rabido), ha tentato la filtrazione di una fine emulsione diluitissima di midollo rabido (*virus fisso*) con la candela Chamberland *F* e con la Berkefeld (*Berkefeld comune probabilmente*). Operava con pressioni piuttosto forti (2-6 atmosfere) e adoperava candele nuove: centrifugava il materiale filtrato, e inoculava, colle varie parti del liquido filtrato e centrifugato, notevoli quantità di materiale sotto la dura del coniglio.

Eccezionalmente ottenne un filtrato attivo dalla Chamberland *F* (2 volte su 7), frequentemente dalla Berkefeld (4 volte su 6). In genere ebbe un prolungamento di 2-3 giorni del periodo di incubazione negli animali inoculati.

---

(1) ANREP, *Wirsch. Hirsch. Jares.*, 1889, riportato nella *Lyssa* di A. Högyes

(2) DE BLASI e RUSSO-TRAVALI, *Bull. della Soc. d'Igiene*, Palermo, 1889.

(3) GUARNIERI, *La clinica moderna*, aprile 1903.

(4) DI-VESTEA, *Giorn. it. delle scienze mediche*, 1903, n. 6-7.

(5) REMLINGER e RIFFAT-BEY, *Compt rend. de la Soc. de biol.*, giugno 1903.

(6) SCHÜDER, *Deut. med. Wochenschr.*, settembre 1903, n. 35.

Remlinger e Riffat-Bey sono pure riusciti in questi ultimi mesi ad ottenere il passaggio del virus rabido diluito in forti quantità d'acqua (1 parte di cervello su 300 di acqua) attraverso alla Berkefeld V, mentre mai il virus passò per altre Berkefeld (W-N) e per la Chamberland F.

In questi ultimi giorni poi anche Schüder dell'istituto di Koch, pubblicava di aver ottenuto il passaggio del virus rabido (*virus fisso?*) attraverso a candele per le quali certamente non passa il vibrione colerigeno, e deduceva da ciò, che l'agente della rabbia doveva avere un diametro trasverso minore di quello del vibrione stesso, e che quindi i corpi di Negri non potevano essere l'agente eziologico della rabbia.

Come si comprende l'argomento interessa assai i ricercatori. Noi sin dal 1902 avevamo intrapreso prove di filtrazione, ripetute molte volte, e che andarono poi a rilento e per il costo di tali prove (che richiedono numerosi animali), e per la difficoltà di avere candele di porosità diversa e ben nota.

In queste ricerche occorre anzitutto distinguere bene la natura del virus adoperato. Specialmente di fronte al reperto di Negri ed alle eventuali deduzioni delle prove di filtrazione, nell'interpretare il reperto stesso, occorre operare su tutte le specie di virus non solo, ma saggiare alla prova di filtrazione varî segmenti (circonvoluzioni, cervelletto, midollo) dell'asse cerebro-spinale, ove i parassiti potrebbero avere forme e diametri diversi.

Inoltre è necessario tenere il massimo conto della preparazione del materiale, della sua diluzione, della pressione adoperata nella filtrazione e della quantità di materiale adoperato nelle inoculazioni di prova. Variare o modificare qualcuno di questi coefficienti vuol dire esporsi a diversità di successo nell'esperimento. Per questo è indispensabile che i dati in merito non lascino dubbî di sorta.

Noi riassumiamo qui brevemente i gruppi di prove fatte ed i risultati ottenuti, esponendo poche osservazioni in riguardo ad essi. Come abbiamo già premesso, queste prove (per l'assieme delle quali ci sono occorsi circa duecento animali), non possono che rappresentare una prima parte di quelle ricerche biologiche le quali devono portare un po' di luce nel campo intricato della

eziologia della rabbia; e non devono quindi interpretarsi che come ricerche di orientamento.

Le nostre prime prove furono fatte colle *candele Chamberland* F.

Le ricerche furono eseguite rispettivamente con virus di strada, di passaggio e fisso.

Il materiale fu sempre finemente spappolato in mortaio, pestandolo e trattandolo assieme con sabbia fina e ben lavata.

Le diluzioni con soluzione fisiologica od acqua, furono fatte all'1 : 20, 1 : 50, 1 : 200; e le filtrazioni eseguite con pressioni da 2,5 a 7 atmosfere.

Abbiamo filtrato separatamente encefali e midolli di conigli e di cani morti rispettivamente di virus fisso o di virus di passaggio e di strada.

Nelle nostre prove, che, sommate con alcune eseguite incidentalmente da uno di noi a Berna per altro ordine di ricerche, arrivano alla dozzina, non ci è mai riuscito di ottenere colla filtrazione un liquido infettante.

Ciò tanto col virus fisso che cogli altri virus.

Il liquido filtrato centrifugato non ha dato risultato migliore.

Si noti che le iniezioni di prova nel coniglio furono fatte sempre sotto la dura, usando tutta la quantità di liquido che il piccolo spazio subdurale permette di introdurre, e avendo sempre cura di fare l'iniezione assai lentamente e delicatamente. In ogni caso le iniezioni furono ripetute almeno su due animali.

L'esame microscopico del liquido centrifugato non ha dimostrato nulla di rimarchevole.

Abbiamo provato anche le *piccole candele di laboratorio* di diverso tipo e tutte di fabbricazione francese, usando diluzioni notevoli di virus fisso, e filtrando per aspirazione (con una depressione di 72 cm. di mercurio della pompa a vuoto). Per quanto le prove siano state ripetute (6 volte) con materiale finissimo, il risultato fu costantemente negativo.

Analogamente e pel solo encefalo di coniglio morto per virus fisso, fu provato una volta un comune *filtro di Kitasato* con candela nuova, filtrando per aspirazione a poco meno di 75 cm. di depressione. Anche in questa prova il liquido filtrato diede risultato negativo.

Uguali esperienze furono ripetute 3 volte col *filtro di Reichel* usando tutto il sistema nervoso di conigli morti per virus fisso, finemente spappolato e diluito oltre all'1 : 200, con aspirazione di circa 75 cm. di mercurio. Ma riguardo all'infettività del filtrato l'insuccesso fu assoluto.

Per ultimo abbiamo tentato i *filtri Berkefeld*. Non avendo dapprima a disposizione una serie di candele Berkefeld, che ci giunsero solo dopo molti mesi (la serie colla quale da qualche tempo sperimentiamo porta i numeri 5-6-7  $\frac{1}{2}$ -8-9; mancano sempre i valori assoluti della porosità), abbiamo adoperato candele nuove del *tipo comune* abituale Berkefeld.

Colla candela comune Berkefeld, opportunamente montata con un manicotto che permette il raccordo a una pompa Gay-Lussac, abbiamo filtrato esclusivamente il virus fisso. Si sono usati sistemi nervosi centrali di conigli morti di virus fisso, senza separare il midollo dall'encefalo. Lo spappolamento fu fatto con sabbia, la diluzione con soluto fisiologico e sempre con grossi volumi di liquido. Le filtrazioni con pressioni da 3 a 6 atmosfere hanno dato 5 volte su 7 un liquido che inoculato sotto la dura del coniglio dava la rabbia all'animale.

Il decorso dell'infezione negli animali infettatisi di rabbia non fu uniforme: solo in 2 si ebbe la morte all'inizio dell'8<sup>a</sup> giornata; in 8 conigli per contro l'incubazione della malattia si prolungò, secondo gli animali, dal 9° sino al 13° giorno.

Una volta per tutte ricordiamo che le candele furono costantemente provate con emulsioni di vibrioni e che tutte quelle adoperate non permettevano il passaggio del germe di prova.

Così pure ricordiamo che la diagnosi di rabbia nei conigli non solo fu fatta in base alla sintomatologia e al decorso dell'infezione: ma in ogni caso dubbio si sono fatti passaggi in serie in altri conigli.

Tutti gli animali poi si sono sempre tenuti in osservazione almeno 75 giorni.

In attesa di poter sperimentare su altri filtri a pori più grossi, e di avere ripetuto per intero queste prove col virus di passaggio e di strada sulla serie delle Berkefeld, abbiamo provato anche il comportamento dei vari virus ai *filtri grossolani di carta*, senza servirci di alcuna pressione. Queste prove

avevano un certo interesse per stabilire con quale facilità e per quali pori passavano senza pressione gli agenti della rabbia, e per dedurre anche la diversa facilità con cui dalle varie parti del sistema nervoso centrale si poteva ottenere un liquido infettante dopo le filtrazioni: e in realtà anche queste prove hanno fornito dei dati assai interessanti.

Come nelle prove precedenti ci siamo serviti dei varî virus, provenienti dal coniglio o dal cane: il materiale è stato spapolato in mortaio con sabbia fine e le diluzioni non sono state fatte mai sotto all'1 : 150.

Per filtrare si sono usati filtri della comune carta da filtri per sostanze saline. È inutile osservare che queste carte non hanno valori di porosità molto costanti, per cui la prova è di sua natura alquanto grossolana.

Nelle varie filtrazioni abbiamo usato o dei filtri semplici, saturati prima con soluzione fisiologica, oppure dei filtri costituiti da un triplice strato di carta.

Il liquido filtrato si è sempre esaminato al microscopio, senza eseguire però speciali metodi di colorazione.

I risultati ottenuti sono questi:

Il virus fisso passa con relativa facilità per un semplice filtro di questa carta, ed il liquido filtrato è sempre infettante.

Il periodo di incubazione è di norma di 7 giorni.

Il V. F. passa pure abbastanza bene per un triplice strato di carta; però in 4 prove su 5 abbiamo verificato un fatto interessante. E cioè: i conigli iniettati subduralmente col liquido filtrato, presentavano un periodo di incubazione notevolmente lungo (mai meno di 12, e talora sino a 28 dì), comportandosi come i conigli iniettati con un virus attenuato. Si noti, poi, che il materiale contenuto nel filtro, invece, dava sempre la morte in 7 giorni.

Di fronte a tal fatto è troppo ovvio pensare a quanto molti ricercatori, e già Pasteur stesso, avevano detto dell'attenuazione del virus. Come è noto, è stato, cioè, quasi uniformemente osservato che l'attenuazione del virus rabido consiste in una diminuzione numerica dei germi della rabbia, e su tale ipotesi (che per vero sino ad oggi non è suffragata da prove sperimentali dirette) è stato anzi da Högyes fondato un sistema di trattamento vaccinante.

Ora questo fatto che i filtrati ottenuti con filtri di carta, senza pressione, al riparo dalla luce, dal calore, e non accompagnati dall'attenuazione del materiale posto sul filtro (il quale infatti dava anche a filtrazione finita la morte in 7 dì ai conigli), si comportano da virus attenuati, è una prova assai dimostrativa che l'attenuazione è data da diminuzione numerica.

Come spiegare altrimenti, infatti, l'attenuazione del filtrato, se non pensando ad un trattenimento meccanico dei germi sul filtro, e quindi ad una diminuzione numerica? Non solo mancavano tutti gli altri fattori per spiegare un attenuamento qualsiasi, ma contro all'ipotesi di una attenuazione determinata dagli agenti fisici stava il fatto che il materiale contenuto nel filtro non si presentava punto attenuato.

Questa prova dell'attenuamento per diminuzione numerica dei germi, che ricordiamo poichè ci pare una delle più probative tra quelle offerte sino ad oggi, può sollevare facili obbiezioni. Così si può ricordare come nelle prove di Di-Vestea e nelle nostre stesse, il filtrato della Berkefeld si sia comportato da virus quasi per nulla attenuato, mentre là soprattutto doveva mostrarsi palese questa presupposta diminuzione numerica di germi. Certo l'obbiezione è grave, sebbene non possa modificare i fatti osservati. Però ricordiamo come altro sia sperimentare con pressioni di 4-7 atmosfere (talchè è possibile allontanare forse anche tutti i germi dal materiale filtrante), altro è operare con filtri di carta e senza pressione!

In ogni caso, poi, nessun'altra spiegazione attendibile di questa attenuazione si presenta, fuori di quella più sovra riportata.

Le filtrazioni del virus fisso con semplici e tripli filtri di carta furono fatte tanto per l'encefalo che pel midollo dei conigli. In entrambi i casi, i filtrati si dimostrarono infettanti. Si noti che l'esame microscopico del sedimento ottenuto dalla centrifugazione del liquido passato pel triplo filtro, dimostrò come non vi si trovassero mai elementi più grossi dei globuli rossi: per cui si può ritenere che in totale l'ampiezza filtrante dei pori del sistema dei filtri non fosse maggiore di circa  $5 \mu$ .

Pel virus di passaggio proveniente dal coniglio valgono gli stessi fatti accennati pel V. F.: cioè tanto con semplici, che con tripli filtri di carta si ottiene senza pressione il passaggio del

virus attraverso la carta stessa. E pure analogamente si comportano tanto l'encefalo che il midollo.

Pel virus di strada noi abbiamo fatto solo due prove con encefali di cani rabbiosi, nei quali i corpi di Negri eran grossi e caratteristici. Per quanto noi abbiamo spappolato con cura il materiale, il *filtrato passato attraverso il triplice filtro di carta fu inattivo*, quello ottenuto per filtrazione semplice era invece infettante.

\*  
\* \*

I risultati di queste prove di filtrazione si prestano a considerazioni varie, che cercheremo di riassumere brevemente.

Anzitutto si deve ritenere come indubbio che almeno per quanto riguarda il virus fisso (non è possibile comprendere dalla breve e sintetica nota di Schüder se egli operò anche su virus di strada), *l'agente della rabbia, o almeno alcune forme di esso agente, o stadî particolari di questo capaci di infettare, passano per le comuni candele di Berkefeld*, che trattengono gli abituali germi dell'acqua. Trattandosi di filtrazioni eseguite sotto pressioni notevoli, non si può giudicare del diametro di questi agenti, o di queste forme dell'agente rabido, se non con molta larghezza: poichè la pressione che opera su elementi protoplasmatici, forse senza pareti resistenti, potrebbe modificarne i diametri, e spingerli così, attraverso a pori che in condizioni normali non permetterebbero il passaggio di questi stessi elementi.

Tuttavia, però, il diametro massimo di queste forme deve aggirarsi al più attorno a pochissimi  $\mu$ , mentre il diametro minimo deve essere assai più basso e certo non di molto superiore a  $0,5 \mu$ . Ciò è indirettamente comprovato anche dalle filtrazioni per carta.

Naturalmente non si può escludere che i diametri, e specie il massimo, siano notevolmente inferiori.

Risulta ancora che tali forme dell'agente rabido si incontrano (almeno per quanto riguarda il V. F.) tanto nell'encefalo che nel midollo.

Pel virus di passaggio, le prove incomplete eseguite non ci permettono di dire gran cosa. Per comportamenti di analogia in alcune prove, si potrebbe pensare che almeno pel coniglio anche

con candele Berkefeld si dovrebbe ottenere il passaggio degli agenti rabidi attraverso la candela; ma è arrischiato l'emettere un giudizio che l'esperimento può contraddire. Su questo punto le prove da noi già iniziate ora, potranno dire una parola sicura. Sta però che attraverso ai filtri di carta esso passa tanto facilmente quanto il V. F. e che questi germi rabidi, o queste particolari forme del germe, passano tanto nella filtrazione dell'encefalo che del midollo.

Pel virus di strada noi possiamo sgraziatamente dire poco. L'unico fatto rilevato si è che, almeno per l'encefalo, il virus non passa attraverso spessi filtri, anche di carta, senza pressione: per cui si potrebbe dire che il virus di strada (encefalo di cane) non filtra là ove filtra il V. F. Dipende ciò da una reale maggiore grossezza dell'agente? o dipende da un più intimo rapporto dell'agente cogli elementi del tessuto?

Colle sole prove che si sono esposte, è impossibile rispondere. Non solo si deve operare su filtri Berkefeld e a carbone con pressioni varie (il che stiamo facendo): ma si deve operare separatamente sull'encefalo e sul midollo. Si comprende infatti che se da un lato le prove di filtrazione con carta, deporrebbero per una grossezza maggiore del virus di strada in confronto del V. F., e quindi potrebbero per certo lato interpretarsi come favorevoli all'ipotesi parassitaria dei corpi di Negri, per altro verso se il midollo spinale si comportasse alla filtrazione come l'encefalo, non si saprebbe come mettere d'accordo la prova stessa di filtrazione coi reperti morfologici. Questi infatti, se lascian pensare ad eventuali agenti di forma grossa nell'encefalo, escludono la loro presenza nel midollo. Per cui là dove non filtra il virus dell'encefalo, e dato che questo virus sia legato ai corpi osservati dal Negri, dovrebbe ancora filtrare il virus del midollo.

Inoltre a noi pare che le semplici prove di filtrazione eseguite in questo modo, non possano risolvere la quistione della grandezza dell'agente rabido. E fa meraviglia come Schüder per delle prove positive di filtrazione del virus rabido (quale virus sia stato adoperato non si comprende dalla breve nota della *Deut. med. Wochenschr.*) attraverso a candele che certo trattengono i vibriani colerigeni, tragga senz'altro la conclusione che i corpi di Negri non possono essere l'agente della rabbia.

Una prova di filtrazione positiva anche alla candela Chamberland *F*, e anche adoperando solo dei cervelli di cane rabidi per virus di strada o di passaggio, permette solo di affermare questo: *che certamente l'agente della rabbia, o alcune forme di esso, ha diametri inferiori al vibrione colerigeno*. Ma come si può escludere che anche le forme rimaste sul filtro, e assai più grosse di quelle passate attraverso la candela, hanno proprietà infettanti, e che costituiscono quindi delle forme dell'agente rabido?

Perchè la prova sia convincente, essa (trattandosi di un virus che può non essere dato, e probabilmente non è cagionato da schizomiceti: e che in ogni caso è possibile sia legato a germi endocellulari) non deve limitarsi solo a constatare se il filtrato attraverso a certi filtri è infettante; ma è indispensabile vedere se ripetendo *le filtrazioni col materiale rimasto sul filtro e nuovamente diluito, si riesce ad esaurire l'infettività del materiale rimasto sul filtro*.

Se ad esempio operando con cervello di cane rabido per virus di passaggio, e con candela Berkefeld, ripigliando 5-6 volte il materiale rimasto sulla candela (frantumando al caso la candela stessa, diluendo il tutto opportunamente, e spappolando, prima delle singole prove di filtrazione, ben bene il materiale con apparecchi a pressione, per evitare che dei parassiti, perchè endocellulari, restino nel materiale sopra il filtro, anche se piccoli) si riuscirà ad un certo punto a dimostrare che la parte rimasta sul filtro è inattiva, solo allora si potrà dire che realmente tutte le forme dell'agente della rabbia (o in altri termini tutto il virus, e nel nostro caso il virus di passaggio) hanno diametri inferiori a quelli dei vibrioni di Koch, e che quindi le forme endocellulari di Negri non sono i parassiti della rabbia.

Questo noi stiamo ora tentando • non ostante le difficoltà tecniche.

Ma le semplici prove di filtrazione eseguite come si è fatto sino ad ora, non escluderanno mai l'obbiezione pregiudiziale già posta da Negri: che cioè accanto a forme grosse dell'agente da lui presupposto quale uno sporozoario, si trovino forme piccolissime, capaci di infettare e di passare per tutti i filtri.

Per cui concludendo, le prove di filtrazione da noi eseguite, e del resto tutte quelle riportate di altri ricercatori, fanno natu-

ralmente pensare che l'agente della rabbia sia assai piccolo (e in ogni modo più piccolo dei comuni germi dell'acqua), ma non possono escludere che vi siano forme infettanti più grosse. Se quindi fanno dubitare della natura parassitaria dei corpi di Negri, non possono però, a ragione di esperimento e di logica, escluderla.

\*  
\* \*

*Filtrazione delle ghiandole rabide e tentativi di trasmissione del virus rabido per la via delle ghiandole salivari.* — Anche colle ghiandole salivari di cani resi sperimentalmente rabidi, abbiamo fatto qualche prova di filtrazione. Le ghiandole adoperate furono la sottolinguale e la sottomascellare, e si sono preparate pestandole e sospendendo il materiale poltiglioso in soluzione fisiologica così da avere forti diluzioni che poi si filtravano.

Le filtrazioni furono fatte alla Chamberland *F* (4 atmosfere di pressione) e furono negative. Pei filtri di carta però, semplici o tripli, il virus passa anche senza pressione.

Osserviamo come una volta, nel corso di tali ricerche, la sottomascellare di un cane certamente rabido si sia mostrata assolutamente non infettante.

Si noti che le nostre ricerche furono fatte, quando per le osservazioni di Nocard e Roux (1) certamente le ghiandole dovevano essere infette.

Ci siamo anche chiesti perchè, in realtà, il virus rabido arriva alle ghiandole salivari nel cane, ed arriva in periodi nei quali talora neppur tutto il sistema nervoso periferico è infetto. Si tratta semplicemente di una diffusione paragonabile a quella che avviene lungo le vie linfatiche? O non vi ha nelle ghiandole una moltiplicazione del virus, invece di una semplice eliminazione di virus che arriva preformato alle ghiandole stesse? E fors'anco l'agente della rabbia non potrebbe avere nelle ghiandole uno stadio particolare di vita?

L'argomento non è privo di interesse. Noi abbiamo fatto delle prove molto semplici, ma il cui risultato può richiamare l'attenzione sul problema.

---

(1) NOCARD e ROUX, *Annal. Pasteur*, 1890, n. 2-4.

Abbiamo cioè pensato, che se la diffusione del virus rabido alle ghiandole era paragonabile a quella che avviene nei nervi periferici, doveva accadere verosimilmente che inoculando, nel parenchima ghiandolare, del virus rabido, l'animale doveva infettarsi non diversamente di quanto succede inoculandolo nei nervi. Non occorre dire che si dovevano usare non troppo forti quantità di virus per impedire una diffusione dai linfatici perighiandolari.

Abbiamo fatto tre volte la prova, iniettando virus di passaggio e virus di strada nella ghiandola sottomascellare (iniezione nel parenchima), una volta anzi si è adoperata una ingente quantità di materiale infettante. Orbene, nessuno dei tre cani ammalò di rabbia.

Se il fatto sia assolutamente costante non possiamo dire in base a tre prove. Comunque la cosa pare almeno strana: tanto più se si pensa che una volta la quantità di virus adoperato era notevolissima. Forse si tratta di un'azione antivirulenta della ghiandola non previamente lesa: però non si comprende perchè questo non dovrebbe succedere anche nella rabbia di strada. O non dipende piuttosto ciò dal fatto che realmente la ghiandola rispetto al virus rabido non si può paragonare ai nervi periferici? In tal caso non si comprenderebbe bene, perchè, invece, nella rabbia del cane la ghiandola appaia infetta almeno non diversamente dei nervi periferici.

A noi è sôrto il sospetto che nelle ghiandole il virus compia forse un ciclo particolare di vita, e che solo per tal fatto si spieghi l'insuccesso delle nostre inoculazioni.

Tale ipotesi non è suffragata da prove sperimentali: se le difficoltà di operare sui cani non arresteranno le ricerche, sarà possibile risolvere questo dubbio e vedere se realmente la diffusione del virus alla ghiandola va interpretata come un semplice passaggio, o se non si debba presumibilmente legare a un momento di un eventuale ciclo di sviluppo del parassita, od almeno ad una reale moltiplicazione del virus, senza modificazioni biologiche, nella ghiandola stessa.

---



ORGANO UFFICIALE

per la pubblicazione degli Atti della Società Piemontese d'Igiene

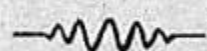
DIRETTA DAI PROFESSORI

L. PAGLIANI

Direttore dell'Istituto d'Igiene  
della R. Università di Torino

A. SCLAVO

Direttore dell'Istituto d'Igiene  
della R. Università di Siena



**COLLABORATORI:**

Ing. R. Bentivegna, *Roma* — Prof. E. Bertarelli, *Torino* — Prof. G. Bordoni-Uffreduzzi, *Milano* — Prof. P. Canalis, *Genova* — T. C. Med. L. Caporaso, *Roma* — Dott. Carini, *Berna* — Prof. E. Di Mattei, *Catania* — Prof. A. Di Vestea, *Pisa* — Ing. F. Fichera, *Catania* — Prof. P. Foà, *Torino* — Prof. B. Galli-Valerio, *Losanna* — Prof. P. Giacosa, *Torino* — Prof. G. Golgi, *Pavia* — Prof. B. Gosio, *Roma* — Prof. O. Leoni, *Roma* — Prof. A. Maggiora, *Modena* — Prof. C. Mazza, *Torino* — Prof. A. Monti, *Pavia* — Prof. B. Morpurgo, *Siena* — Prof. A. Monari, *Messina* — Prof. A. Mosso, *Torino* — Prof. I. Nosotti, *Roma* — Prof. S. Pagliani, *Palermo* — Dott. L. Palazzo, *Roma* — Prof. E. Perroncito, *Torino* — Prof. A. Piutti, *Napoli* — Dott. E. Raseri, *Roma* — Prof. C. Sanquirico, *Torino* — Ten.-Col. Medico C. Sforza, *Bologna* — Prof. A. Sclavo, *Siena* — Prof. L. Simonetta, *Milano* — Prof. G. Sormani, *Pavia* — Prof. C. Terni, *Messina* — Prof. G. S. Vinaj, *Torino*.

Redattore-Capo: Prof. Dott. **FRANCESCO ABBA**

Direttore del Laboratorio Batteriologico dell'Ufficio d'Igiene di Torino

La RIVISTA si pubblica il 1° ed il 16 di ogni mese in fascicoli di non meno di 32 pagine. Ogni numero contiene normalmente le seguenti rubriche:

- |                                  |                                  |                                |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| 1. Quistioni del giorno;         | 12. Interessi professionali;     | 23. Polizia veterinaria;       |
| 2. Memorie originali;            | 13. Camp. contro la malaria;     | 24. Notizie salute pubblica;   |
| 3. Note pratico-scientifiche;    | 14. Igiene industr. e profess;   | 25. La marcia del colera;      |
| 4. Rivista bibliografica;        | 15. » individuale;               | 26. Lotta contro la tubercul.  |
| 5. Rendiconti di Soc. scient.;   | 16. » urbana e rurale;           | 27. Questioni sanit. in Parl.; |
| 6. Notizie di Atti ufficiali;    | 17. » alimentare;                | 28. Nomine, onorificenze;      |
| 7. Giurisprudenza sanitaria;     | 18. » scolastico-educat.;        | 29. Concorsi, posti vacanti;   |
| 8. Demografia e statist. sanit.; | 19. Amministrazione sanit.;      | 30. Necrologio;                |
| 9. Insegnamento dell'igiene;     | 20. Congressi, esposizioni;      | 31. Pubblicazioni ricevute;    |
| 10. Personale sanitario;         | 21. Assistenza e previdenza;     | 32. Atti della Società Pie-    |
| 11. Cronaca;                     | 22. Profilassi malattie infett.; | montese d'Igiene.              |

**PREZZI D'ABBONAMENTO:**

Per l'Italia **L. 12**, anticipate - Per l'Esterio **L. 15**, anticipate.

Per gli *Ufficiali Sanitari Comunali* **L. 10**, anticipate.

**COMBINAZIONI:**

Coll'Amministrazione dell'*Avvisatore Sanitario* diretto dal dottor C. Ramello si è combinato un abbonamento cumulativo al prezzo di **L. 14** (per gli Ufficiali sanitari **L. 12**).

Coll'Amministrazione del periodico di ingegneria sanitaria *L'Ingegnere Igienista* diretto dal prof. Pagliani e dall'ing. Losio, si è combinato un abbonamento cumulativo al prezzo ridotto di **L. 20**.

**NB.** Sono disponibili poche copie complete delle annate dal 1890 al 1902 della *Rivista* che costituiscono tredici volumi legati in *brochure*. Prezzo **L. 65**.

Domande, importi di abbonamento, lettere, stampe, giornali, corrispondenze, cambi, ecc., dirigansi al Redattore-Capo Prof. Dott. **Francesco Abba**, via *Galliani*, 27, **TORINO**.